

EFFET DE L'ACIDE BORIQUE SUR LA CROISSANCE DE LA ROSELLE (*HIBISCUS SABDARIFFA* L. VAR. *SABDARIFFA*) AU GABON

Alexis Nicaise Lepengue
Jacques Francois Mavoungou
Alain Souza
Bertrand M'batchi

Laboratoire de Pathologie, Toxicologie et Protection des plantes, Unité de
recherche Agrobiologie, Université des Sciences et Techniques de Masuku
(USTM), Gabon

Résumé

La roselle est l'une des principales plantes maraîchères du Gabon. Elle y est essentiellement cultivée pour des raisons alimentaires et médicinales. Pour augmenter la production de cette plante, un essai de stimulation de croissance a été réalisé par prétraitement des graines à l'acide borique (H_3BO_3). Les indices de croissance mesurés étaient la germination des graines, les croissances longitudinale et diamétrale des tiges et la surface foliaire des plantes. Les résultats obtenus ont révélé que l'acide borique augmentait tous les paramètres morphométriques évalués, à des concentrations faibles, inférieures à 10^{-6} M. A des teneurs élevées, supérieures à 10^{-5} M, ce composé a plutôt inhibé les paramètres de croissance mesurés. Ces effets sont vraisemblablement liés à la présence de l'oligoélément bore dans la formulation structurale de cette molécule. L'usage de l'acide borique à de faibles doses peut donc être envisagé dans les programmes d'amélioration des productions de la roselle.

Mots clés: Roselle, Graines, Acide borique, Stimulation, Inhibition, Croissance

Abstract

Roselle is the one of gabonese major vegetable crop plant, where it is cultivated for alimentary and medicinal reasons. In order to intensify agronomical production of this plant, boric acid (H_3BO_3) inductions effects are tested by measuring seed germination, longitudinal and diameter growth,

and leaf area. The results showed that boric acid increased all morphometric parameters evaluated at low concentrations, below 10^{-6} M. However, it was noted that at concentrations above 10^{-5} M, this compound rather inhibited the growth parameters measured. These actions should be resulted from boron presence in boric acid molecule chemical formulation. Lower boric acid concentration treatments (particularly 10^{-6} M) should be used to ameliorate roselle growth and production.

Keywords: Roselle, Seed, Boric acid, Stimulation, Inhibition, Growth

Introduction

La roselle ou oseille de Guinée (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*), est une plante maraîchère de la famille des Malvaceae, riche en éléments fibrés et en acides organiques (notamment l'acide ascorbique ou vitamine C) (Boulanger et al., 1984). Les feuilles de cette plante sont largement consommées au Gabon comme légumes en sauce, et les calices utilisés pour la fabrication des boissons acidulées et rafraîchissantes localement appelées jus d'oseille. La roselle est également exploitée pour ses nombreux métabolites secondaires à vertus thérapeutiques, notamment les anthocyanes et les hibiscrines (Morton, 1987). Les infusions de différents organes de cette plante (racines, feuilles fleurs, rameaux, fruits) sont ainsi préconisées dans les traitements de scorbut, de cholestérol, et de diverses infections pulmonaires et urinaires (Perry, 1980). La roselle possède aussi des propriétés laxative, purgative, cardio-régulatrice, diurétique, astringente, sédative et tonifiante (Chenu et al., 1986). Malgré la diversité des cultivars (au moins treize) rencontrés au Gabon, et l'augmentation des surfaces agraires périurbaines des grandes villes depuis une dizaine d'années (Lépengué et al., 2010), les productions de la roselle ne parviennent pas à satisfaire la demande de consommation locale. Cette situation est non seulement liée aux mauvaises pratiques agricoles (Lépengué et al., 2007), mais également aux techniques de conservation restées majoritairement artisanales, donc peu efficaces, pour garantir la disponibilité régulière des produits sur le marché. C'est au regard de tous ces manquements, que notre laboratoire a initié un ensemble de travaux visant à améliorer les rendements de la roselle. Dans la présente étude, nous expérimentons l'impact de l'acide borique (H_3BO_3) sur la croissance de ce légume. Ce composé a été choisi pour ses propriétés stimulatrices de croissance rapportées par Zouzou et al. (2000) sur le blé, Benavides et al. (2000) sur le bananier, et Legrand (2006) sur le cèdre. Les indices morphométriques végétaux mesurés étaient : la germination des graines, les croissances longitudinale et radiale des tiges et la surface foliaire des plantes.

Matériel et méthodes

Matériel

Le matériel végétal utilisé était la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*, Malvaceae), cultivar RV2. C'est une plante à tiges vertes et à feuilles rouges, particulièrement appréciée comme légume dans diverses recettes culinaires locales (Lépengué et al., 2008). Les graines nous ont été fournies par le Département de Biologie de l'Université de Sciences et Techniques de Masuku (USTM).

Méthodes

Mise en place de l'essai

Trois cent vingt graines de roselle préalablement traitées par trempage pendant 5 min. dans 1 L d'hypochlorite de sodium 1 % (Lépengué et al., 2010) ont été divisées en 8 lots de 40 graines et incubées séparément dans des bécjers contenant 500 ml des solutions d'acide borique de concentrations variant entre 10^{-1} M et 10^{-8} M (Zouzou, 2000). Un lot témoin de 40 graines a également été préparé avec de l'eau distillée. Après 24 h d'incubation, les graines ont été ensemencées dans des boîtes de culture de volume 1 dm^3 , contenant un sol de texture argilo limoneuse et préalablement stérilisé par autoclave (Lépengué et al., 2008). Quatre graines de roselle ont été semées par boîte de culture ; ce qui correspond à 10 boîtes pour chaque traitement, et à 90 unités pour l'ensemble de l'échantillonnage. Les préparations transférées dans une serre en polyéthylène de dimensions $15 \times 10 \times 2,5 \text{ m}^3$ (Lépengué et al., 2007) ont quotidiennement été arrosées par 500 ml d'eau distillée, jusqu'à la fin de l'expérimentation au 35^e jour.

Impact l'acide borique sur la germination des graines

Pour chaque traitement, le nombre de graines germées a été déterminé 48 h après les semis (Evenari, 1957), et l'inhibition de germination (% Ig) calculée à partir de la formule suivante (Lépengué et al., 2010):

$$\% Ig = \frac{Gt - Ge}{Ge} \times 100 \quad (1)$$

Où Gt est le nombre de graines germées de roselle dans les 10 boîtes témoins ; et Ge le nombre de graines germées dans les 10 boîtes d'un essai considéré.

Impact de l'acide borique sur les croissances primaires et secondaires des plantes

La hauteur des plantes de roselle a été mesurée à l'aide d'un décimètre, du sol à la première fourche foliaire (Lépengué et al., 2007), et le diamètre à l'aide d'un pied à coulisse numérique (Fisherbrand, $P \pm 0.01 \text{ mm}$, UK), au niveau du collet (Lépengué et al., 2007). L'impact des traitements d'acide borique sur les 2 types de croissance a été déterminé par analogie à l'équation (1).

Impact de l'acide borique sur la surface foliaire des plantes de roselle

La surface foliaire des plantes a été mesurée à l'aide d'un papier calque transparent découpé aux dimensions de la feuille, et pesé à la balance (Ohaus Analytic 60, USA). Les surfaces foliaires ont ensuite été déduites par correspondance des masses (Lépengué et al., 2007), et les variations calculées à partir des valeurs essais et témoins, sur le modèle de l'équation (1).

Répétitions et analyses statistiques

Toutes les expériences décrites dans ce travail ont été répétées 3 fois et les données soumises à une analyse de variance, à un critère d'évaluation, au logiciel Statistica 6.0. Les moyennes des mesures ont ensuite été discriminées à l'aide des tests de comparaisons multiples de Newman-Keuls, au seuil de 5%.

Résultats

Effet de l'acide borique sur la germination des graines de roselle

Les traitements des graines de roselle à l'acide borique ont donné les résultats présentés aux figures 1A et 1B. Leur analyse a révélé que ce composé induisait 2 effets de germination opposés, suivant les concentrations utilisées. A des teneurs élevées, de valeurs supérieures ou égales à 10^{-5} M, l'acide borique a provoqué des inhibitions significatives de germination, avec des ampleurs proportionnelles aux concentrations utilisées. Les effets les plus sévères ont alors été notés aux concentrations de 10^{-1} M, avec des taux d'inhibition équivalant à -43,85%. A de faibles concentrations, de valeurs inférieures ou égales à 10^{-6} M, l'acide borique a plutôt induit des augmentations significatives de germination des graines. Les hausses les plus importantes (21,05%) ont été observées aux concentrations de 10^{-8} M (figure 1B).

Effet de l'acide borique sur la croissance longitudinale des plantes de roselle

Les effets des prétraitements des graines de roselle à l'acide borique ont donné les résultats de croissance longitudinale résumés aux figures 2A et 2B. Leur examen a permis d'identifier 2 réponses morphologiques des plantes subséquentement aux concentrations d'acide borique employées : le raccourcissement des tiges, pour des concentrations égales ou supérieures à 10^{-5} M, et l'allongement des mêmes organes, pour des concentrations équivalentes ou inférieures 10^{-6} M. Les raccourcissements des plantes ont tous été statistiquement significatifs et proportionnels aux concentrations d'acide borique appliquées. Les réductions les plus sévères ont alors été notées aux concentrations de 10^{-1} M, avec des valeurs de -47,18%. Les effets d'allongement observés pour des concentrations inférieures ou égales à 10^{-6} M, caractérisés par l'apparition de plantes aux tailles supérieures à celles de témoins, ont également été significatifs (excepté pour 10^{-6} M), au seuil de

5%. Les augmentations les plus accentuées ont atteint des valeurs de 18,87%, aux concentrations de 10^{-8} M (figure 2B).

Effet de l'acide borique sur la croissance diamétrale des plantes de roselle

Les résultats de croissance diamétrale des plantes de roselle traitées à l'acide borique ont montré que ce composé provoquait des réductions significatives de la circonférence des tiges végétales, à des concentrations supérieures ou égales à 10^{-5} M (figure 3A et 3B). Ces baisses ont toutes été significatives au seuil de 5%, et proportionnelles aux concentrations d'acide borique employées. Les affections les plus graves ont atteint des valeurs de -42,24%, et furent obtenues aux doses de 10^{-1} M. Les plantes ont alors présenté des ports effilés et fragiles au toucher. A des teneurs inférieures ou égales à 10^{-6} M, l'acide borique a plutôt induit des augmentations significatives des diamètres des plantes, qui de ce fait ont présenté de fortes envergures. Les effets les plus prononcés (18,87%) ont été relevés aux concentrations de 10^{-8} M (figure 3B).

Effet de l'acide borique sur la croissance de la surface foliaire des plantes de roselle

Les données de surface foliaire générées par les plantes de roselle traitées à l'acide borique ont révélé que ce composé provoquait soit l'augmentation des dimensions foliaires, pour des concentrations inférieures ou égales à 10^{-6} M, soit leur diminution, pour des teneurs supérieures ou égales à 10^{-5} M. Toutes ces variations (positives et négatives) de surface foliaire ont statistiquement été significatives au seuil de 5%. Les baisses les plus graves (-42,24%) ont été notées aux concentrations de 10^{-1} M, tandis que les hausses les plus importantes (20,69%) furent produites par les concentrations de 10^{-8} M.

Autres changements observés

Hormis les changements quantitatifs décrits plus haut, d'autres variations morphologiques notables ont été observées. Les feuilles des plantes issues des traitements boriques de concentration élevée (10^{-1} M) ont présenté des faciès malades caractérisés par de fortes chloroses, de larges lésions nécrotiques ou des flétrissements étendus aux pédoncules. Ces feuilles se sont révélées fragiles au toucher, et facilement détachables au moindre contact. Les plantes issues de ce traitement ont par ailleurs précocement fleuri vers le 22^e jour, alors que les cultures témoins ont fleuri vers le 45^e jour, c'est-à-dire 3 semaines plus tard. Cette floraison précoce, caractérisée par l'éclosion de fleurs de dimensions plus petites qu'à l'ordinaire, ne s'est pas normalement poursuivie, puisque la majorité des fleurs est morte au bout d'une semaine de vie. Les rares organes arrivés à maturité ont produit des fruits anormaux de petites tailles et contenant un nombre réduit de graines, elles –mêmes de très petit calibre. Certains de ces

organes ne contenaient même pas de graines. Tous ces fruits sont aussi tombés moins d'une semaine après leur formation. Les calices de coloration rouge pâle (alors que d'ordinaire ils sont de couleur rouge vif) étaient de dimensions réduites et nettement moins pulpeux que les témoins.

A l'arrachage, les racines secondaires des plantes issues des lots traités à la concentration borique de 10^{-1} M se sont révélées de courtes tailles, chétives et cassantes, avec dans la plupart des cas une excroissance de la racine pivotante. Les plantes issues des traitements boriques faibles (10^{-8} M et 10^{-7} M) ont en revanche présenté des racines secondaires épaisses, longues et flexibles avec une racine pivotante permanente et vigoureuse.

Discussion

Les résultats de cette étude ont montré que les traitements d'acide borique induisaient 2 effets biologiques opposés, sur les différents paramètres morphométriques de la roselle étudiés. A des teneurs inférieures ou égales à 10^{-6} M, l'acide borique a provoqué l'augmentation des taux de germination de graines, des croissances longitudinale et diamétrale des tiges, et des surfaces foliaires des plantes. Les teneurs supérieures ou égales à 10^{-5} M ont en revanche abaissé ces différents paramètres morphologiques.

Le phénomène d'induction des croissances des plantes par l'acide borique a déjà été rapporté par divers auteurs, notamment Primavessi (2000) chez le bananier, Legrand (2006) chez le cèdre, et Duval (1995) chez certaines espèces de légumineuses et de *Brassica*. Ces auteurs ont en effet montré que divers traitements d'acide borique stimulaient non seulement la croissance racinaire des différentes plantes étudiées, mais également l'augmentation des hauteurs de leurs tiges respectives. Les travaux analogues de Zouzou (2000) sur le blé, et de Kocabek et al. (2009) sur *Arabidopsis thaliana* ont abouti aux mêmes conclusions.

Jusqu'à ce jour les modes d'action de ce composé ne sont pas très bien élucidés. Les hypothèses émises sont nombreuses et parfois divergentes. Mais pour beaucoup d'auteurs, les effets stimulants de l'acide borique sont liés à la présence de l'élément bore dans la formulation structurale de ce composé (Heller et al., 1994). Cet oligoélément indispensable aux végétaux agirait sur 3 fonctions physiologiques différentes, à savoir : l'édification des parois et des membranes végétales, la translocation des ions et des composés glucidiques, et la synthèse des phytohormones (Duval, 1995 ; Vallé et al., 1999).

Au niveau de l'édification cellulaire, le bore accélérerait la rigidification pariétale, par création des complexes moléculaires avec le calcium structural ou avec les glycoprotéines pariétaux (Hopkins, 2003). Cette action accélérerait l'édification pariétale et la formation de nouvelles cellules aboutissant à l'augmentation de la croissance tissulaire (Lombin et Bates, 1982 ; Vallé et al., 1999).

Au niveau du transport moléculaire de glucides, le bore stimulerait l'enchâssement membranaire des pompes protéiques de types ATPases, permettant l'accélération des échanges ioniques intermembranaires (Duval, 1995 ; Pendias et Pendias, 1982). Le mécanisme serait proche de celui du chargement phloémique et translocation du saccharose dans la sève élaborée (Hopkins, 2003). Le contre transport des protons vers les cellules de compagne engendrerait un passage par symport des cations K^+ ou Mg^+ et des glucides vers le cytoplasme des cellules du tube criblé (Heller et al., 1994). Les glucides ainsi mobilisés finiraient par atteindre les différents organes de la plante, où ils serviraient aux divers besoins métaboliques (Jacquemard, 1995). Cette action aboutirait à l'augmentation de la croissance et du développement de la plante (Hopkins, 2003).

Le rôle du bore dans les mécanismes de synthèse des phytohormones reste également mal défini à ce jour. Cependant différents travaux montrent que sa présence augmente significativement la synthèse de nombreuses hormones, surtout l'auxine et ses dérivés structuraux (Legrand, 2006). De tels phénomènes ont notamment été observés chez *Brassica* sp. (Duval, 1995), le céleri (Hopkins, 2003), la betterave (Hopkins, 2003) et le palmier à huile (Jacquemard, 1995).

Dans notre travail, l'augmentation des taux de croissance de tous les paramètres morphométriques étudiés pourrait impliquer individuellement ou collectivement chacun de ces différents mécanismes physiologiques.

La réduction des indices morphologiques de croissance des plantes de roselle soumises à des concentrations élevées d'acide borique dans cette étude semble provenir des phénomènes de toxicité chimique de ce composé. Des résultats semblables ont déjà été signalés par Zouzou (2000) chez le blé, Séguin (1985) chez le cresson et la lentille, et Mongenet (1986) chez le tournesol. Dans ces différentes expérimentations, les concentrations d'acide borique supérieures à 10^{-6} M ont significativement abaissé la croissance des plantes étudiées.

Conclusion

L'acide borique induit 2 effets morphologiques opposés chez la roselle : la stimulation de la croissance des plantes à des concentrations inférieures à 10^{-6} M, et la réduction de ce paramètre à des concentrations inférieures à cette valeur. Ces résultats indiquent que l'utilisation de l'acide borique peut être envisagée dans les programmes d'amélioration des productions de la roselle. Les seuils de concentrations inductrices devraient pour cela être déterminées au préalable et conseillées aux paysans cultivateurs pour éviter les emplois anarchiques. Des travaux à venir prévus en plein champ devraient permettre d'expérimenter la reproductibilité des présents résultats (de serre) en conditions naturelles.

Références:

- Benavides B.M.M. et Alzate A.G. Dynamique du bore dans le sol d'une plantation de bananiers plantain (*Musa* AAB cv. "Dominico harton") de la région du Quindio, Colombie. InfoMusa, **11**,1, 30-33, 2000.
- Boulanger J., Follin J. C. et Bourley J. Les hibiscus textiles en Afrique tropicale : conditions particulières de production du kénaf et de la roselle. Coton et Fibres tropicales, série « Documents, étude et synthèse », 81 p, 1984.
- Chenu J., Ouvry P. et Lavergne R. Les plantes médicinales tropicales. Darení (ed.), tome 5, Libreville, Gabon, 102 p, 1986.
- Duval J. La luzerne et le bore. Document de synthèse ; projet pour une agriculture écologique, Mc Grill University, Canada, 12 p, 1995.
- Evenari M. Les problèmes physiologiques de la germination, Bull. Soc. Fr. Physiol. Végét., **3**, 4, 105-124, 1957.
- Heller R., Esnault R. et Lance C. Physiologie végétale, Nutrition. 5^e édition de l'Abrégé. Éditions Masson, Paris, 294 p, 1994.
- Hopkins W.G. Physiologie végétale. Edition de Boeck, Université de Bruxelles, Belgique, 532 p, 2003.
- Jacquemard J.C. Le palmier à huile. Edition Maisonneuve et Larose, Paris, France, 207 p, 1995.
- Kocabek T., Svoboda Z., Alzwiall M., Rolfe S.A. et Fellner M. Boron regulated hypocotyls elongation is affected in Arabidopsis mutants with defected in light signalling pathways. Environmental and experimental botany, **67**, 1, 101-111, 2009.
- Legrand P. Fertilisation de jeunes cèdres de l'Atlas carencés en bore dans le massif central. Revue, forestière française, **58**, 6, 509-520, 2006.
- Lépengué A.N., M'batchi B. et Aké S. Impact de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur la croissance et la valeur marchande de la roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. Rev. Ivoir. Sci. Technol., 10, 207-216, 2007.
- Lépengué A.N., M'batchi B. et Aké S. Production, caractérisation et utilisation des composés toxiques de *Phoma sabdariffae* Sacc. dans la sélection des cultivars résistants de roselle (*Hibiscus sabdariffa* L. var. *sabdariffa*) au Gabon. Agronomie Africaine, **20**,1, 59-67, 2008.
- Lépengué A.N., Mouaragadja I., Camara B., Kone D., M'batchi B. et Aké S. Impact du filtrat de culture de *Phoma sabdariffae* Sacc. sur quelques paramètres physiologiques des graines de roselle au Gabon. Revue du Cames, Sciences et médecine, 10, 41-45, 2010.
- Lombin G.L. et Bates T.E. Comparative responses of peanuts, lafaalfa, and soybeans to varying rates of boron and manganese on two calcareous Ontario soils. Canadian Journal of Soil science, 62, 1-9, 1982.
- Mongenot P. F. Acide borique et développement de la plantule de tournesol. Etude préliminaire de ses effets sur l'allongement de l'hypocotyle (essais *in*

vivo et in situ). Interactions (*in situ*) avec l'acide indolyl-3 acétique et l'acide phénylacétique. Thèse, Faculté de Pharmacie, Université de Franche-Comté, Besançon, 195 p, 1986.

Morton J.F. Roselle. *In : Fruits of warm climates*. Julia F. Morton ed., Miami, FL., U.S.A., pp. 281-286, 1987.

Pendias A.K. et Pendias H.K. Trace elements in soils and plants. CRC edition, Boca Raton, Floride, 365 p, 1982.

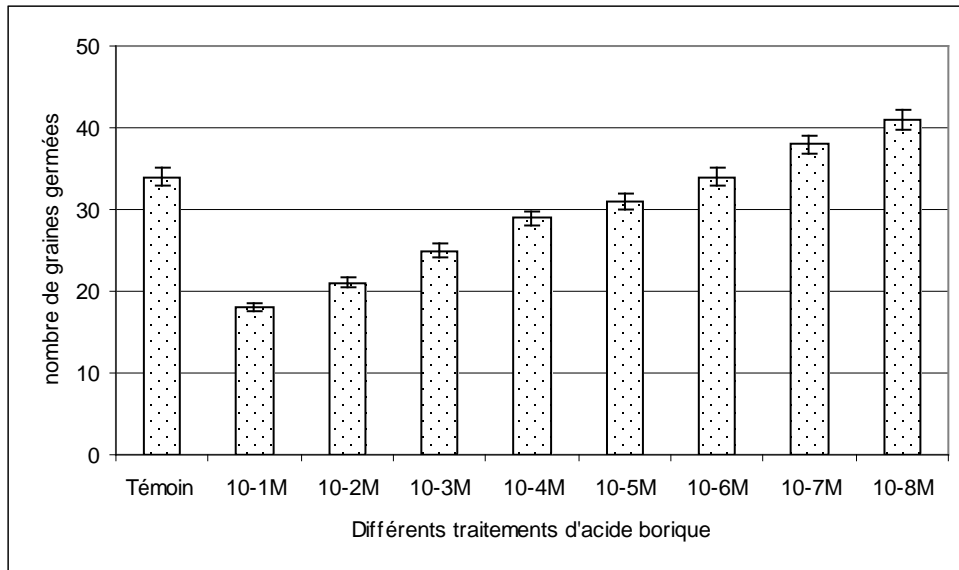
Perry L. M. Medicinal plants of East Southeast Asia. Mit Press, Cambridge, 1247 p, 1980.

Primavessi A. Manejo ecologicodel suelo. Presentacion al simposio "Biología de suelos Tropicales" Universidad de Caldas, Manizales, Colombie, 14-18 Août 2000.

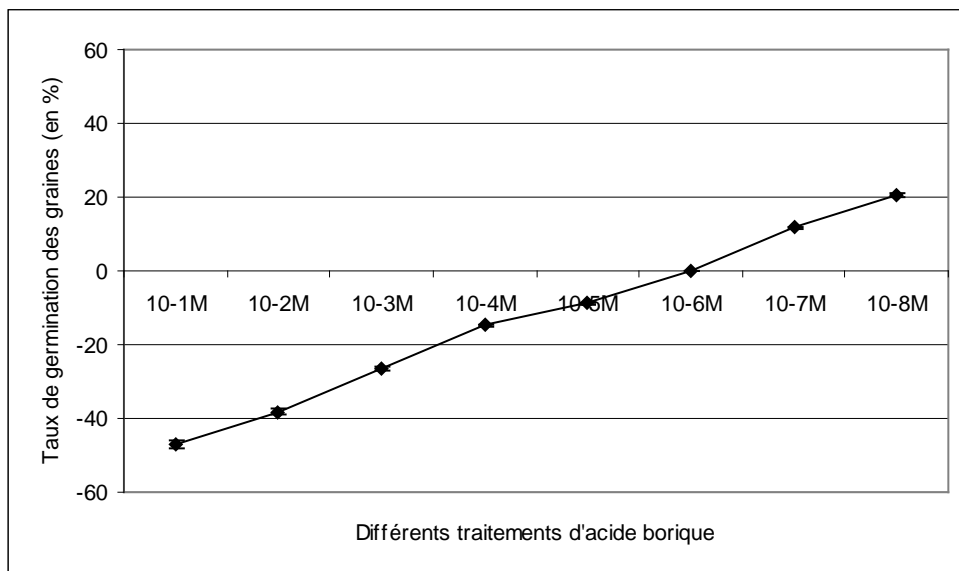
Séguin A. Contribution à l'étude des acides indolyl-1 acétique et indolyl-2 acétique. Propriétés chromatographiques (CCM), spectroscopiques, (UV, IR, RMN, Masse) et physiologiques (effets sur la croissance des coléoptiles de blé, racine de cresson, et plantule de lentille). Comparaison avec l'acide indolyl-3 acétique et l'indole. Thèse d'Etat, Faculté des Sciences et Techniques de l'Université de Franche-Comté, Besançon, 295 p, 1985.

Vallé C., Bilodeau G. et Delaunière C.J. Les techniques de culture multicellulaires, Presses universitaires de Laval, Quebec, Canada, 394 p, 1999.

22. Zouzou M. Effets des acides boriques, phénylboronique et diphénylboronique sur l'élongation des fragments de coléoptile de blé : comparaison avec les acides phénylacétique et indole-3-acétique. Bioterre, **1**, 1, 67-74, 2000.



A

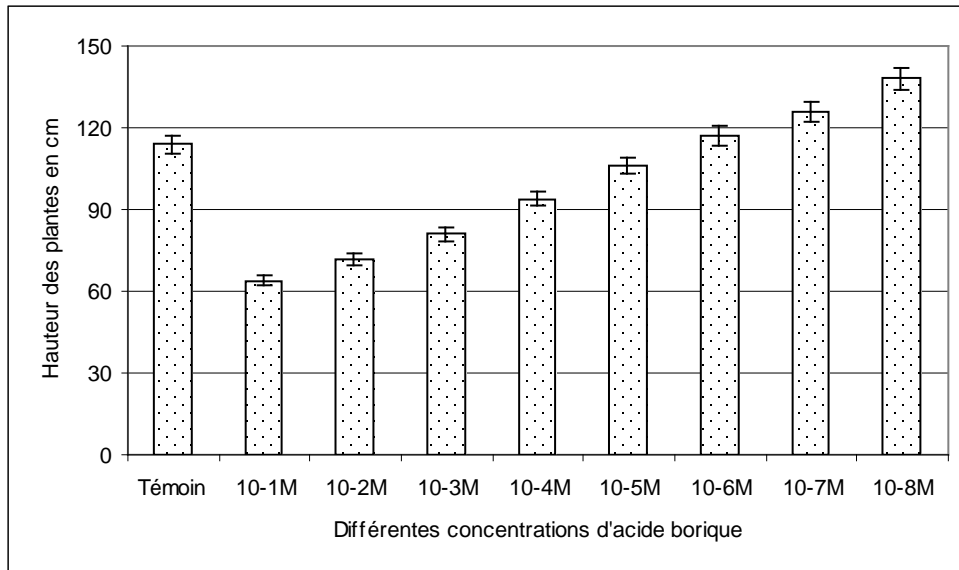


B

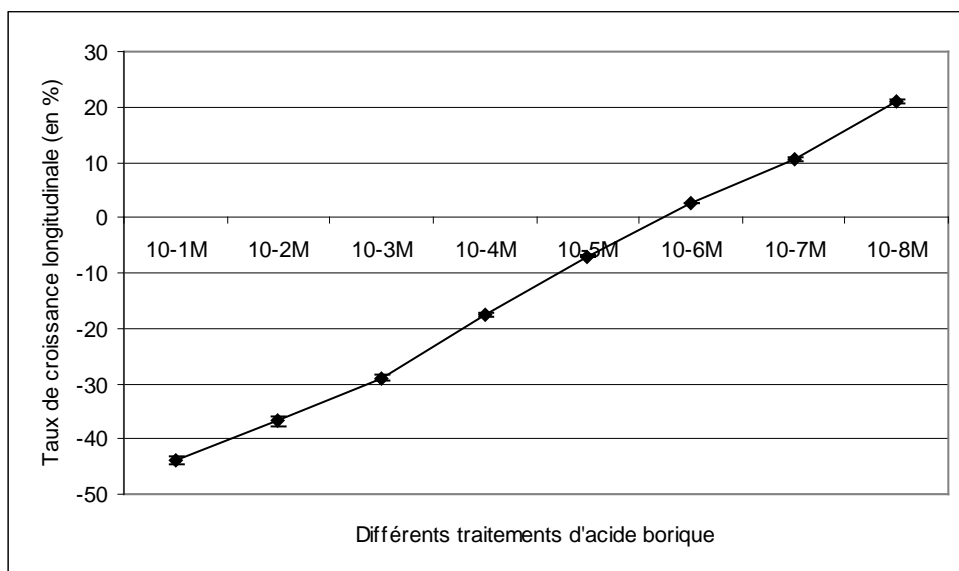
Figure 1 : Effet de l'acide borique sur la germination des graines de roselle.

A : Nombre de graines germées au niveau de chaque traitement ;

B : Taux de germination des graines traitées par rapport aux témoins.



A

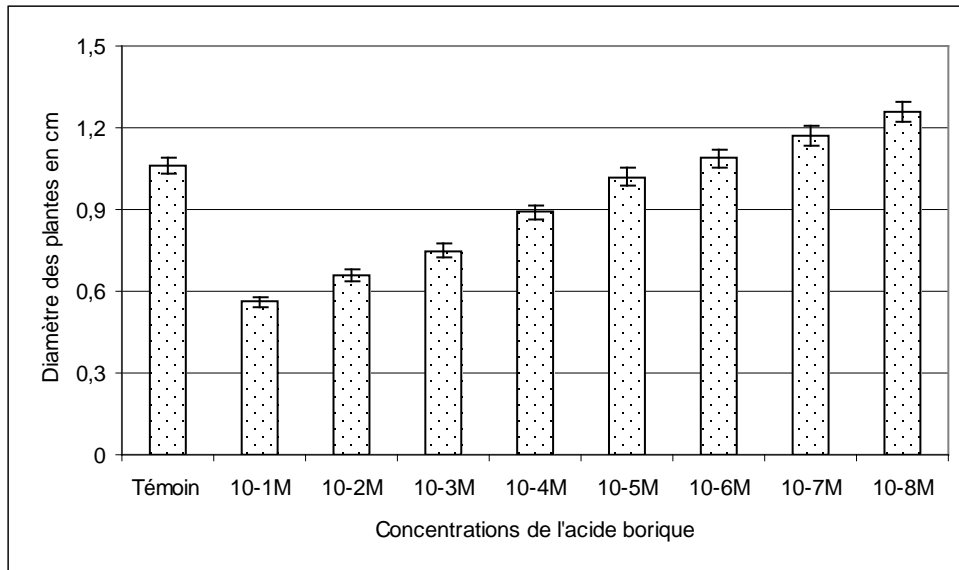


B

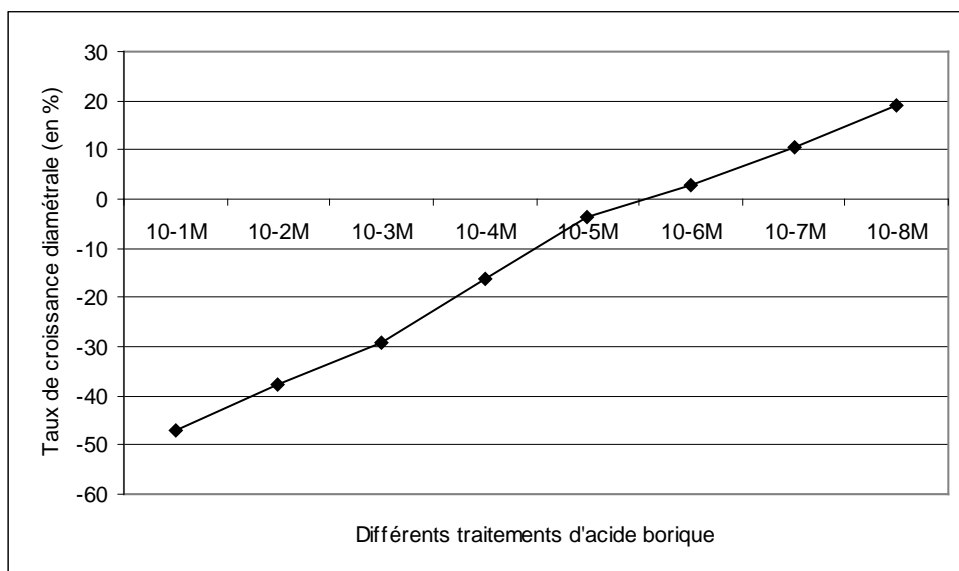
Figure 2 : Effet de l'acide borique sur la croissance longitudinale des plantes de roselle.

A : Hauteur des plantes au bout de 35 jours de culture ;

B : Taux de croissance longitudinale des plantes traitées par rapport aux témoins.



A



B

Figure 3 : Effet de l'acide borique sur la croissance tangentielle des plantes de roselle.

A : Diamètre des plantes au bout de 35 jours de culture ;

B : Taux de croissance diamétrale des plantes traitées par rapport aux témoins.